

LIÊN HỆ GIỮA ĐỘNG HỌC CỦA PHÔI GIAI ĐOẠN PHÂN CHIA VỚI TIỀM NĂNG PHÁT TRIỂN PHÔI NANG

Nguyễn Thị Phương Dung⁽¹⁾, Nguyễn Huyền Minh Thuy⁽¹⁾, Lê Thị Bích Trâm⁽¹⁾, Nguyễn Thị Thu Lan^{(1),(2)}, Hồ Mạnh Tường^{(1),(2)}
 (1) Bệnh viện An Sinh, TP.HCM, (2) Khoa Y - Đại học quốc gia Tp.HCM

Từ khoá: Camera quan sát phôi liên tục (time-lapse monitoring _ TLM), động học, hình thái động học, phôi giai đoạn phân chia, phôi nang.

Keywords: Time-lapse monitoring (TLM), kinetic, morphokinetic, cleavage stage embryo, blastocyst.

Tóm tắt

Mục tiêu: Xác định mối liên hệ giữa động học của phôi giai đoạn phân chia với tiềm năng phát triển phôi nang

Phương pháp: Phân tích hồi cứu trên hình thái động học của phôi được theo dõi với hệ thống nuôi cấy phôi kết hợp camera quan sát liên tục Primo Vision. Các chu kỳ điều trị trong nghiên cứu được thực hiện theo phác đồ chuẩn tại IVFAS và nuôi cấy phôi nang. Các thông số động học của phôi ở giai đoạn phân chia (t1, t2, t3, t4, t5, t8, cc2, s2 và s3) được phân loại theo tứ phân vị. Khả năng phát triển thành phôi nang được đánh giá theo từng nhóm phân loại để xác định khoảng thời gian tối ưu cho mỗi thông số động học của phôi ở giai đoạn phân chia. Phân tích hồi quy đa biến được thực hiện nhằm tìm ra thông số động học có giá trị tiên lượng cho tiềm năng phát triển thành phôi nang.

Kết quả: 568 phôi được đưa vào phân tích. Trong đó, 109 phôi có tiến trình phân chia bất thường (19,19%). Dựa trên khả năng phát triển thành phôi nang, khoảng thời gian tối ưu cho mỗi thông số động học ở giai đoạn phân chia được xác định: t1 (<22,95 giờ), t2 (<25,57 giờ), t3 (33,52-39,63 giờ), t4 (35,27-41,43 giờ), t5 (45,82-54,93 giờ), t8 (<57,57 giờ), cc2 (10,33-11,90 giờ), s2 (<0,83 giờ) và s3 (<6,17 giờ). Thông số có giá trị tiên lượng cho khả năng hình thành phôi nang là t4 OR=2,641 (95%CI 1,033–6,750), cc2 OR=3,353 (95%CI 1,409-7,981) và s3 OR=3,330 (95%CI 1,277–8,685).

Kết luận: Đây là nghiên cứu với cỡ mẫu lớn đầu tiên ở Việt Nam về vấn đề này. Động học của phôi ở giai đoạn phân chia có liên hệ với tiềm năng phát triển thành phôi nang. Kết quả nghiên cứu là tiền đề để phát triển mô hình tiên lượng tiềm năng phát triển thành phôi nang trong quá trình ứng dụng hệ thống TLM Primo Vision tại IVFAS.

Từ khoá: Camera quan sát phôi liên tục (time-lapse monitoring _ TLM), động học, hình thái động học, phôi giai đoạn phân chia, phôi nang.

Tác giả liên hệ (Corresponding author):
 Nguyễn Thị Phương Dung, email:
 phuongdung305bt@gmail.com
 Ngày nhận bài (received): 05/04/2016
 Ngày phản biện đánh giá bài báo (revised):
 20/04/2016
 Ngày bài báo được chấp nhận đăng
 (accepted): 25/04/2016

Abstract

RELATIONSHIP BETWEEN CLEAVAGE STAGE EMBRYO KINETICS AND BLASTOCYST DEVELOPMENT POTENTIAL

Objective: To determine the relationship between cleavage stage embryo kinetics and blastocyst development potential

Methods: This is a retrospective analysis of embryo morphokinetics monitored in Primo Vision. All treatment cycles in this study were followed by the standard procedure at IVFAS and blastocyst culture. Cleavage embryo morphokinetics (t1, t2, t3, t4, t5, t8, cc2, s2) were categorized into four quartiles. Blastocyst development potential were valuated in groups to determine the favourable time ranges for each cleavage embryo morphokinetic. A multivariate regression analysis was performed to determine which morphokinetics could be used to predict blastocyst development potential.

Results: 568 embryos were analysed. There were 109 embryos with abnormal cleavage (19.19%). According to blastocyst development potential, the favourable time ranges for each cleavage embryo morphokinetic were identified: t1 (<22.95 h), t2 (<25.57 h), t3 (33.52-39.63 h), t4 (35.27-41.43 h), t5 (45.82-54.93 h), t8 (<57.57 h), cc2 (10.33-11.90 h), s2 (<0.83 h) and s3 (<6.17 h). Three morphokinetic parameters which could be used as predictors for blastocyst development potential were determined: t4 OR=2.641 (95%CI 1.033–6.750), cc2 OR=3.353 (95%CI 1.409-7.981) and s3 OR=3.330 (95%CI 1.277–8.685).

Conclusions: This is the first study with large sample in Vietnam regarding the use of TLM in IVF. The cleavage stage embryo kinetics were related to blastocyst development potential. The results could be used to develop a suitable blastocyst prediction model when using Primo Vision for embryo selection at IVFAS.

Key words: Time-lapse monitoring (TLM), kinetic, morphokinetic, cleavage stage embryo, blastocyst.

1. Đặt vấn đề

Việc phân loại phôi và lựa chọn chính xác phôi có tiềm năng phát triển tốt là một trong những yếu tố tiên quyết góp phần thành công của một chu kỳ thụ tinh trong ống nghiệm (TTTON). Vì vậy, nhiều phương pháp đánh giá chất lượng phôi đã được xây dựng nhằm nâng cao hiệu quả điều trị. Đến nay, các phương pháp đánh giá chất lượng phôi chủ yếu dựa trên các tiêu chuẩn về hình thái, di truyền hoặc khả năng chuyển hóa của phôi. Trong đó, phân loại và lựa chọn phôi dựa vào tiêu chuẩn hình thái là phương pháp được sử dụng đầu tiên, gắn liền với lịch sử phát triển của lĩnh vực TTTON nhờ tính đơn giản, chi phí thấp và hiện vẫn có giá trị tiên lượng cho tiềm năng phát triển của phôi.

Gần đây, sự phát triển của hệ thống nuôi cấy phôi kết hợp với camera quan sát liên tục (time-lapse monitoring_TLM) đã tạo bước ngoặt mới

trong lĩnh vực TTTON. TLM ghi nhận đầy đủ tiến trình phát triển của phôi, cung cấp dữ liệu về động học phát triển của phôi. Nhờ đó, TLM trở thành công cụ giúp chuyên viên phôi học có nhận định chính xác hơn về chất lượng phôi, những phôi có hình thái tốt theo tiêu chuẩn phân loại thường quy có thể tiềm ẩn nguy cơ phân chia bất thường. Từ đó, tiêu chuẩn hình thái động học (morphokinetic), sự kết hợp giữa tiêu chuẩn đánh giá hình thái truyền thống và động học của phôi ghi nhận từ TLM, đã hình thành giúp cho việc phân loại và lựa chọn phôi chính xác hơn. Đến nay, nhiều mô hình phân loại và chọn lọc phôi dựa trên tiềm năng phát triển và làm tổ của phôi cũng đã được xây dựng và phát huy hiệu quả trong ứng dụng lâm sàng. Trong đó, các thông số động học của phôi ở giai đoạn đầu phát triển (ngày 1 đến ngày 3) được chứng minh có tương quan với tiềm năng phát triển và làm tổ của phôi [1], [2], [3], [4].

Tuy nhiên, động học phát triển của phôi trong thực tế chịu sự tác động của nhiều yếu tố như điều kiện nuôi cấy phôi, phác đồ điều trị TTON, đối tượng bệnh nhân... [5], [6]. Do đó, việc áp dụng mô hình chọn lựa phôi với TLM được xây dựng từ một trung tâm TTON này cho các trung tâm TTON khác có thể không phát huy hiệu quả. Vì vậy, việc xác định các thông số động học chuẩn của phôi qua các giai đoạn phát triển cũng như xây dựng mô hình chọn phôi tiềm năng là mục tiêu hàng đầu khi ứng dụng TLM vào quy trình điều trị tại một trung tâm TTON. Tại Việt Nam, đơn vị hỗ trợ sinh sản thuộc bệnh viện An Sinh (IVFAS) là một trong những nơi đầu tiên áp dụng hệ thống TLM Primo Vision vào quy trình nuôi cấy phôi TTON. Bước đầu, các thông số động học của phôi được ghi nhận để làm cơ sở cho việc xác định chuẩn tham khảo và xây dựng mô hình chọn phôi tiềm năng. Trên cơ sở đó, việc phân tích mối tương quan giữa động học của phôi giai đoạn phân chia với tiềm năng phát triển phôi nang trong điều kiện hiện tại là một bước trong quá trình xây dựng mô hình tiên lượng phôi tiềm năng với hệ thống TLM Primo Vision.

2. Mục tiêu nghiên cứu

Xác định mối liên hệ giữa động học của phôi giai đoạn phân chia với tiềm năng phát triển phôi nang.

3. Phương pháp nghiên cứu

Thiết kế nghiên cứu: hồi cứu

Phương pháp chọn mẫu

Tiêu chuẩn nhận:

- Tuổi vợ hoặc người cho noãn < 38 tuổi
- Số noãn chọc hút/chu kỳ \geq 12 noãn
- Nuôi cấy phôi ngày 5 với hệ thống TLM Primo Vision

Tiêu chuẩn loại:

- Sử dụng tinh trùng từ phẫu thuật hoặc tinh trùng yếu, dị dạng nặng.
- Sử dụng kỹ thuật hỗ trợ hoạt hóa noãn (AOA) sau ICSI
- Chu kỳ trưởng thành noãn trong ống nghiệm (IVM)

Địa điểm và thời gian tiến hành

Nghiên cứu do trung tâm Nghiên cứu Di truyền & Sức khỏe Sinh sản (CGRH), Khoa Y ĐHQG TP.HCM

quản lý. Số liệu được thu thập tại IVFAS, bệnh viện An Sinh từ tháng 8/2014 đến tháng 6/2015.

Các bước tiến hành

Thu nhận noãn, ICSI và nuôi cấy phôi

Bệnh nhân được kích thích buồng trứng bằng phác đồ GnRH antagonist và chọc hút noãn vào thời điểm 36 ± 1 giờ sau khi tiêm thuốc kích trưởng thành noãn. Sau đó, noãn được cấy 3-4 giờ trong môi trường G-IVF^{plus} (Vitrolife) ở điều kiện 37°C, 7%CO₂, 5% O₂. Sau khi được tách khỏi khối tế bào hạt (cumulus) nhờ Hyase (Vitrolife), noãn trưởng thành được tiêm tinh trùng vào bào tương noãn (ICSI). Noãn sau ICSI được chuyển vào vi giọt 20 μ l môi trường G1^{plus} (Vitrolife) của đĩa cấy phôi thường quy và nuôi cấy ở điều kiện 37°C, 7%CO₂, 5% O₂. Đĩa WOW (Vitrolife) được chuẩn bị với môi trường G1^{plus} (Vitrolife) sau thời điểm ICSI và được cân bằng qua đêm ở điều kiện 37°C, 7%CO₂, 5% O₂ để sử dụng cho nuôi cấy hợp tử sau khi kiểm tra thụ tinh.

Noãn được kiểm tra thụ tinh vào thời điểm 16-18 giờ sau ICSI và chuyển vào đĩa WOW (đã chuẩn bị ngày trước). Sau đó, đĩa WOW được đưa vào hệ thống Primo Vision EVO, đặt cố định trong tủ cấy Galaxy 170R ở điều kiện 37°C, 7%CO₂, 5% O₂. Vào thời điểm phôi ngày 3, khoảng 2/3 lượng môi trường G1^{plus} (Vitrolife) của giọt nuôi cấy phôi được thay mới bởi môi trường G2^{plus} (Vitrolife) (đã được cân bằng trước).

Ghi nhận thông số động học của phôi

Hình ảnh phôi được ghi nhận liên tục mỗi 10 phút. Chuyên viên phôi học sử dụng phần mềm phân tích để đánh dấu các thời điểm phát triển của phôi. Các thông số được ghi nhận và phân tích bao gồm: thời điểm 2 tiền nhân biến mất (t1), thời điểm phôi phân chia lần lượt thành 2 tế bào (t2), 3 tế bào (t3), 4 tế bào (t4), 5 tế bào (t5) và 8 tế bào (t8). Trên cơ sở đó, các khoảng thời gian thể hiện tiến trình phát triển của phôi cũng được xác định: chu kỳ phân bào thứ 2 ($cc2=t3-t2$), sự đồng bộ khi phân chia phôi bào ($s2=t4-t3$ và $s3=t8-t5$). Đồng thời, hình thái phôi (xuất hiện không bào, mảnh vỡ tế bào, phôi bào đa nhân) cũng như cách thức phân bào (phân chia không đều, phân chia trực tiếp từ 1 tế bào thành 3 tế bào, phân chia ngược...) được ghi nhận.

Đánh giá chất lượng phôi nang và lựa chọn phôi

Chất lượng phôi nang được đánh giá vào thời điểm ngày 5 (116 ± 2 giờ) hoặc ngày 6 (140 ± 2 giờ) sau khi ICSI theo tiêu chuẩn thường quy của labo IVFAS (dựa trên đồng thuận đánh giá và phân loại phôi của tổ chức Alpha vào năm 2012). Theo đó, chất lượng phôi nang được đánh giá dựa trên độ nở rộng của khoang phôi, hình thái của khối tế bào nội mô (inner cell mass - ICM) và lớp tế bào lá nuôi phôi (trophectoderm - TE). Phôi nang có chất lượng khá (loại 1 hoặc loại 2) thỏa mãn: khoang phôi đầy hoặc nở rộng, khối ICM rõ và nén, lớp TE có nhiều tế bào xếp đều đặn.

Phôi không có khả năng phát triển đến giai đoạn tạo khoang phôi cho đến thời điểm 140 giờ sau ICSI được xem là phôi ngưng tiến triển đến giai đoạn phôi nang. Chọn lựa phôi dựa trên tiêu chuẩn hình thái và không ưu tiên sử dụng phôi nang phát triển từ phôi có tiến trình phân chia bất thường.

Phân tích số liệu

Phôi có tiến trình phân chia bất thường (phân chia trực tiếp hoặc phân chia ngược) ở bất kỳ giai đoạn nào trong tiến trình phát triển của phôi bị loại khỏi phân tích. Phân tích được thực hiện trên động học của phôi xuất phát từ noãn thụ tinh bình thường (2PN) vào thời điểm kiểm tra thụ tinh. Phôi được chia thành 2 nhóm: (1) nhóm phôi nang và (2) nhóm phôi ngưng tiến triển đến giai đoạn phôi nang. Các thông số động học của phôi (t_1 , t_2 , t_3 , t_4 , t_5 , t_8 , cc_2 , s_2 và s_3) được phân loại thành từng nhóm Q1, Q2, Q3, Q4 theo các khoảng tứ phân vị.

Dùng phép thống kê T-test để đánh giá sự khác biệt về tiến trình phát triển giữa 2 nhóm phôi (1) và (2). Đồng thời, sử dụng Chi-squared test để so sánh tỉ lệ tạo phôi nang ở từng nhóm của mỗi thông số động học. Khác biệt có ý nghĩa thống kê khi giá trị $p < 0,05$. Khoảng thời gian tối ưu cho các thời điểm phát triển của phôi là 2 khoảng tứ phân vị có tỉ lệ tạo phôi nang cao nhất. Sau đó, phân tích hồi quy đa biến được thực hiện để xác định thông số động học của phôi ở giai đoạn phân chia có tác động đến tiềm năng tạo phôi nang. Số liệu được phân tích bằng phần mềm SPSS 20.0

4. Kết quả

Tổng cộng 61 chu kỳ TTON, với 568 hợp tử được nuôi cấy với hệ thống TLM Primo Vision đến ngày 5 hoặc ngày 6, được đưa vào phân tích. Đặc điểm chu kỳ điều trị và quần thể mẫu trong nghiên cứu được thể hiện ở Bảng 1

Hình thái động học của phôi và tỉ lệ tạo phôi nang

Trong 568 phôi, có 151 phôi biểu hiện ít nhất 1 dấu hiệu bất thường trong tiến trình phát triển, bao gồm: 100 phôi phân chia trực tiếp (17,61%), 9 phôi phân bào ngược (1,58%), 54 phôi có hiện diện đa nhân (9,51%), 15 phôi phân chia không đều ở giai đoạn 2 tế bào (2,64%).

Trong nghiên cứu này, phôi có tiến trình phân chia phôi bào trực tiếp hoặc phân chia ngược tại bất kỳ giai đoạn nào trong tiến trình phát triển được xem là phôi phân chia bất thường, chiếm tỉ lệ 19,19% (109/568). Khả năng phát triển thành phôi nang dựa trên đặc điểm phôi phân chia thể hiện ở Bảng 2.

Thời điểm phát triển của phôi và tỷ lệ tạo phôi nang

Bảng 1. Đặc điểm chu kỳ điều trị

Số chu kỳ	61
Tuổi vợ (người cho trứng)	$31,2 \pm 3,6$ (21-38)
Số hợp tử 2PN	568
Số phôi nang	402 (69,91%)
Số phôi nang khá	156 (38,81%)
Số phôi nang khá dụng (chuyển phôi hoặc trữ lạnh)	277 (68,91%)
Tỷ lệ thai lâm sàng (chuyển phôi tươi)	45,45% (10/22)
Tỷ lệ thai lâm sàng (chuyển phôi trữ)	84,21% (16/19)

Bảng 2. Kết quả hình thành phôi nang theo đặc điểm phân chia của phôi

	Bình thường	Bất thường	p
Số phôi quan sát	459	109	
Phôi nang	355 (77,34%)	47 (43,12%)	0,000
Phôi nang khá	154 (43,38%)	2 (4,25%)	0,000
Phôi nang khá dụng	258 (72,68%)	19 (19,15%)	0,000

Bảng 3. Thời điểm phát triển của phôi dựa trên khả năng hình thành phôi nang

Thông số (giờ)	Tạo phôi nang	Không tạo phôi nang	p
t_1	$22,87 \pm 3,30$	$25,30 \pm 6,36$	0,000
t_2	$25,53 \pm 3,27$	$28,64 \pm 6,85$	0,000
t_3	$36,01 \pm 4,50$	$38,43 \pm 8,82$	0,014
t_4	$37,92 \pm 4,27$	$43,00 \pm 9,88$	0,000
t_5	$50,04 \pm 6,74$	$53,76 \pm 10,77$	0,007
t_8	$59,14 \pm 9,88$	$69,33 \pm 12,43$	0,000
cc_2	$10,49 \pm 3,08$	$9,81 \pm 5,43$	0,265
s_2	$1,91 \pm 2,99$	$4,84 \pm 5,24$	0,000
s_3	$9,07 \pm 8,18$	$14,67 \pm 10,55$	0,002

Bảng 4. Khả năng hình thành phôi nang theo các khoảng tứ phân vị

Thông số	Q1		Q2		Q3		Q4		P
	T	%blas.	T	%blas.	T	%blas.	T	%blas.	
t1	<21,13	90,1	21,13-22,95	79,3	22,95-25,15	75,0	>25,15	63,4	0,000
t2	<23,57	90,4	23,57-25,57	85,2	25,57-27,95	73,3	>27,95	60,5	0,000
t3	<33,52	80,2	33,52-36,28	89,0	36,28-39,63	87,3	>39,63	63,6	0,000
t4	<35,27	86,1	35,27-37,78	93,5	37,78-41,43	86,4	>41,43	62,9	0,000
t5	<45,82	81,1	45,82-50,48	94,3	50,48-54,93	92,5	>54,93	65,4	0,000
t8	<52,45	96,9	52,45-57,57	95,9	57,57-65,70	84,7	>65,70	79,6	0,000
cc2	<10,33	69,1	10,33-11,17	91,5	11,17-11,90	89,6	>11,90	69,7	0,000
s2	<0,33	90,6	0,33-0,83	89,2	0,83-2,17	83,9	>2,17	66,0	0,000
s3	<3,00	97,1	3,00-6,17	92,7	6,17-15,7	85,1	>15,7	81,6	0,001

Chú thích: Q: Quartile; T: khoảng thời gian; %blas.: % tạo phôi nang

Bảng 5. Kết quả phân tích hồi quy đa biến dựa trên khả năng hình thành phôi nang

Thông số	OR (95%CI)
t1	1,336 (0,329 - 5,433)
t2	2,851 (0,643 - 12,644)
t3	0,537 (0,200 - 1,443)
t4	2,641 (1,033 - 6,750)
t5	1,889 (0,719 - 4,961)
t8	1,687 (0,548 - 5,190)
cc2	3,353 (1,409 - 7,981)
s2	0,495 (0,224 - 1,095)
s3	3,330 (1,277 - 8,685)

Chú thích: OR: odds ratio; CI: confidence interval

Kết quả phân tích trên 459 phôi chia bình thường cho thấy các thời điểm phát triển của phôi (t1, t2, t3, t4, t5, t8) và sự đồng bộ trong quá trình phân chia phôi bào (s2, s3) có sự khác biệt giữa nhóm phôi nang và nhóm phôi không phát triển đến phôi nang ($p < 0,05$) (Bảng 3).

Khoảng tham khảo chuẩn cho từng thông số động học

Hai khoảng tứ phân vị có tỉ lệ tạo phôi nang cao nhất được chọn làm khoảng thời gian tối ưu cho mỗi thông số động học (in đậm) (Bảng 4).

Kết quả phân tích hồi quy đa biến

Kết quả phân tích xác định 3 thông số động học của phôi ở giai đoạn phân chia có tác động đến khả năng hình thành phôi nang là t4, cc2 và s3 (Bảng 5).

5. Bàn luận

Tiềm năng của phôi thể hiện khả năng phôi phát triển qua các giai đoạn phân chia, tạo phôi nang, làm tổ và tạo thai diễn tiến. Bên cạnh tiềm năng của phôi, để phôi làm tổ thành công còn đòi hỏi nội mạc tử cung phù hợp và sự tương thích giữa cơ thể mẹ và phôi, yếu tố liên quan đến các tương tác nội tiết, cận tiết và tự tiết [7].

Do đó, việc nuôi cấy phôi dài ngày và chuyển phôi nang là một chiến lược nâng cao tỉ lệ thành công dựa trên 2 cơ sở: (1) phôi nang đã vượt qua giai đoạn tự hoạt hóa vật chất di truyền của phôi nên phôi có cơ hội tồn tại và phát triển tốt hơn khi đến tử cung và (2) phôi được chuyển vào tử cung đúng điều kiện sinh lý trong tự nhiên [8]. Tuy nhiên, hiện nay việc chuyển phôi ở giai đoạn phân chia vẫn được thực hiện thường quy tại nhiều trung tâm TTTON do e ngại những bất lợi của việc nuôi cấy phôi dài ngày như giảm số phôi khả dụng hoặc nguy cơ không có phôi chuyển, ảnh hưởng của điều kiện nuôi cấy nhân tạo đến phôi (epigenetic changes), tăng áp lực về khối lượng công việc cho nhân viên y tế, tăng chi phí cho bệnh nhân... Do đó, việc tiên lượng tiềm năng phát triển thành phôi nang trong giai đoạn 3 ngày phát triển đầu tiên của phôi là yếu tố giúp nâng cao hiệu quả chuyển phôi ở giai đoạn phân chia.

Nghiên cứu này nhằm xác định mối liên hệ giữa động học của phôi giai đoạn phân chia với khả năng hình thành phôi nang trên bệnh nhân Việt Nam điều trị tại IVFAS. Theo đó, cách thức phôi phân chia có ảnh hưởng đến khả năng hình thành phôi nang. Nhóm phôi có tiến trình phân chia bất thường (chiếm tỉ lệ 19,19%) cho kết quả hình thành phôi nang thấp hơn đáng kể so với nhóm phôi phân chia bình thường (43,12% so với 77,34%, $p < 0,05$) (Bảng 2). Theo thống kê của một số nghiên cứu tương tự trên thế giới, tỉ lệ phôi phân chia bất thường ghi nhận là 19,4% [1], 33% (7% phôi phân chia ngược và 26% phôi phân chia trực tiếp) [9] hay 24,5% [3]. Đặc biệt, trong các nghiên cứu này, phôi được xem là phân chia trực tiếp nếu 1 phôi bào phân chia thành 3 phôi bào trong thời gian ngắn hơn 5 giờ [2]. Tỉ lệ tạo phôi nang khi phôi có dấu hiệu bất thường lần lượt là 40% ở nhóm phôi phân chia trực tiếp, 56% hoặc 48% ở nhóm phôi đa nhân có 2 hoặc ≥ 3 nhân ở mỗi phôi bào [9]. Kết quả này chứng tỏ những phôi phân chia bất thường vẫn có khả năng phát triển đến giai đoạn phôi nang. Như vậy, việc nuôi cấy phôi nang để chọn lọc phôi như thường quy vẫn tồn tại nguy cơ sử dụng phôi nang có nguồn gốc từ phôi phân chia bất thường. Do đó, TLM là một hướng tiếp cận

mới để sàng lọc phôi có nguy cơ bất thường về di truyền liên quan đến động học của phôi [4].

Ngoài ra, trong nghiên cứu hiện tại, tỉ lệ tạo phôi nang chất lượng khá ở nhóm phôi phân chia bất thường thấp hơn so với nhóm phôi phát triển bình thường (4,25% so với 43,38%). Khả năng sử dụng phôi nang có nguồn gốc từ phôi phân chia bất thường tùy thuộc vào số lượng phôi nang thu nhận và thời điểm xảy ra phân chia bất thường của phôi. Theo nghiên cứu của Rubio và cộng sự vào năm 2012 thì tỉ lệ làm tổ của phôi phân chia trực tiếp giảm đáng kể so với phôi phân chia bình thường (1% so với 13%, $p < 0,05$) [2].

Trong nghiên cứu này, giá trị trung bình của các thông số t1, t2, t3, t4, t5, t8, s2 và s3 có khác biệt giữa 2 nhóm phôi ($p < 0,05$) (Bảng 3). Theo đó, nhóm phôi nang có tiến trình phát triển nhanh hơn và phân chia đồng bộ hơn so với nhóm phôi không tạo phôi nang. Sự dao động về thời điểm phát triển của phôi liên quan trực tiếp đến tiến trình của tế bào trong quá trình phân chia. Điều kiện nuôi cấy tác động đến sự chuyển hóa của các nhân tố xuất phát từ noãn như độ trưởng thành của noãn (Escrich và cs., 2010) kết hợp với ảnh hưởng của nhân tố thuộc về tinh trùng có thể gây thay đổi khoảng thời gian giữa các lần phân chia phôi bào (pha S). Ngoài ra, sự sai lệch trong bộ máy di truyền của phôi cũng có thể trì hoãn sự sao chép vật chất di truyền (DNA) (Lechniak và cs., 2008), làm thay đổi độ dài của chu kỳ phân bào và cách thức phân chia phôi bào [1]. Trong khi đó, các yếu tố này đều liên quan trực tiếp đến khả năng phát triển của phôi đến giai đoạn phôi nang.

Kết quả phân tích đã xác định được khoảng giá trị tham khảo cho các thông số động học của phôi ở giai đoạn phôi phân chia trong điều kiện tại IVFAS là t1 (<22,95 giờ), t2 (<25,57 giờ), t3 (33,52-39,63 giờ), t4 (35,27-41,43 giờ), t5 (45,82-54,93 giờ), t8 (<57,57 giờ), cc2 (10,33-11,90 giờ), s2 (<0,83 giờ) và s3 (<6,17 giờ) (Bảng 4). Trong khi đó, các khoảng tham khảo được xác định trong nghiên cứu tương tự của Mario Cruz và cộng sự vào năm 2012 là t2 (<25,3 giờ), t3 (<39,6 giờ), t4 (<40,1 giờ), t5 (48,5-57,9 giờ), cc2 (<11,6 giờ) [8]. Ngoài ra,

một số nghiên cứu khác dựa trên khả năng làm tổ của phôi để xác định khoảng thời gian tham khảo cho từng thông số động học như: t3 (35,4-40,3 giờ), t4 (36,4-41,6 giờ), t5 (48,8-56,6 giờ), s2 (<0,76 giờ) [1] hay t3 (34 - 40 giờ), t5 (45 - 55 giờ) [2]. Sự khác nhau trong chuẩn tham khảo về động học của phôi giai đoạn phân chia ở các nghiên cứu trên thể hiện tác động của điều kiện khảo sát và quần thể mẫu nghiên cứu, tương ứng với phác đồ điều trị tại mỗi trung tâm TTON. Do vậy, không thể áp dụng một chuẩn tham khảo về động học của phôi nhất định cho các trung tâm TTON không có sự tương đồng về điều kiện nuôi cấy phôi và phác đồ điều trị.

Trong nghiên cứu hiện tại, các thông số t4 (35,27-41,43 giờ), cc2 (10,33-11,90 giờ) và s3 (<6,17 giờ) có tác động đến khả năng hình thành phôi nang (Bảng 5). Những phôi có thông số động học t4, cc2 và s3 nằm trong các khoảng tham khảo trên thì khả năng hình thành phôi nang cao hơn. Do vậy, các thông số t4, cc2 và s3 có thể được sử dụng để tiên lượng tiềm năng phát triển thành phôi nang trong điều kiện tại IVFAS. Trong khi đó, tùy thuộc vào chỉ tiêu tiên lượng và điều kiện của từng trung tâm, các nghiên cứu khác trên thế giới đã đưa ra các thông số tiên lượng khác nhau. Cụ thể, thông số tiên lượng cho khả năng phôi làm tổ theo Mesueger và cộng sự vào năm 2011 là t5 (48,8-56,6 giờ), s2 (<0,76 giờ) và cc2 (<11,9 giờ) hay t3 (34-40 giờ), cc2 (<10,5 giờ) và t5 (45-55 giờ) theo Basile và cộng sự vào năm 2015... Hạn chế của nghiên cứu hiện tại là cỡ mẫu chưa lớn và mới chỉ dừng lại ở việc đánh giá tiềm năng tạo phôi nang. Do vậy, động học của phôi cần tiếp tục được khảo sát trong mối liên hệ với khả năng làm tổ của phôi.

TLM được xem là một hướng tiếp cận mới, an toàn để đánh giá tiềm năng của phôi, cải thiện kết quả và chất lượng của chương trình TTON [10]. Tại Việt Nam, TLM mới được thử nghiệm và áp dụng tại một vài trung tâm nên thông tin về TLM vẫn còn mới mẻ với cả nhân viên y tế và bệnh nhân. Việc thiết lập và xây dựng thành công mô hình sử dụng TLM tại các trung tâm TTON trong nước sẽ khẳng định bước tiến mới nhằm nâng cao hiệu quả và chất lượng

dịch vụ điều trị. Tuy nhiên, hiệu quả điều trị lâm sàng của việc ứng dụng TLM không thể khẳng định trong thời gian ngắn mà cần trải qua nhiều nghiên cứu, khảo sát nhằm xác định mô hình phù hợp với điều kiện của từng trung tâm. Nghiên cứu hiện tại là bước khởi đầu, cơ sở cho việc phát triển các mô hình chọn phôi dựa trên tiêu chuẩn hình thái động học tại IVFAS.

6. Kết luận

Đây là nghiên cứu đầu tiên với cỡ mẫu lớn ở Việt Nam về vấn đề này. Động học của phôi ở giai đoạn phân chia có liên hệ với tiềm năng phát triển thành phôi nang. Kết quả nghiên cứu là tiền đề cho việc xây dựng mô hình chọn lựa phôi tiềm năng với sự hỗ trợ của hệ thống TLM Primo Vision tại IVFAS.

Tài liệu tham khảo

1. Marcos Meseguer, Javier H, Alberto T, Karen MH, Niels BR, and Jose R. The use of morphokinetics as a predictor of embryo implantation. *Human Reproduction*. 2011; 26(10): 2658–2671.
2. Irene Rubio, Reidun K, Inge A, John K, Javier H, María J, Escriv, Jos B and Marcos M. Limited implantation success of direct-cleaved human zygotes: a time-lapse study. *Fertility and Sterility*. 2012; 98(6):1458-63.
3. Basile, Vime, Florensa, Aparicio Ruiz, Garcia V, Remoh and Marcos M. The use of morphokinetics as a predictor of implantation: a multicentric study to define and validate an algorithm for embryo selection. *Human Reproduction*. 2015; 30(2): 276–283.
4. Alison Campbell, Simon F, Natalie B, Samantha D, Mark S, Cristina F and Lindemann H. Modelling a risk classification of aneuploidy in human embryos using non-invasive morphokinetics. *Reproductive BioMedicine Online*. 2013; 26: 477– 485.
5. Daniel JK and Catherine R. Clinical outcomes following selection of human preimplantation embryos with time-lapse monitoring: a systematic Review. *Human Reproduction Update*. 2014; 0(0): 1–15.
6. Kirstine Kirkegaard, Aishling A, Hans JI and Thorir H. Choosing the best embryo by time lapse versus standard morphology. *Fertility and Sterility*®. 2015; 103(2):323-30.
7. Murat Cetinkaya, Caroline P, Hakan Y, Yesim KC, Zafer A and Semra K. Relative kinetic expressions defining cleavage synchronicity are better predictors of blastocyst formation and quality than absolute time points. *J Assist Reprod Genet*. 2015; 32:27–35.
8. Maria Cruz, Nicolas G, Javier H, Inmaculada PC, Manuel M, Marcos M. Timing of cell division in human cleavage-stage embryos is linked with blastocyst formation and quality. *Reproductive BioMedicine Online*. 2012; 25:371-81.
9. Nina Desai, Stephanie P, Linnea RG, Cynthia A, Jeffrey G and Tommaso F. Analysis of embryo morphokinetics, multinucleation and cleavage anomalies using continuous time-lapse monitoring in blastocyst transfer cycles. *Reproductive Biology and Endocrinology*. 2014; 12:54.
10. Kirstine Kirkegaard, Inge EA and Hans JI. Time-lapse monitoring as a tool for clinical embryo assessment. *Human Reproduction*. 2012;0(0): 1–9.